

**AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS NA
BIOLIXIVIAÇÃO DE MINÉRIO LATERÍTICO UTILIZANDO *PENICILLIUM
SIMPLICISSIMUM***

**EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL PARAMETERS IN BIOLEACHING
OF LATERITIC ORE USING *PENICILLIUM SIMPLICISSIMUM***

Louise Neves Nascimento

Aluna de Graduação de Ciências Biológicas: Produção e Biotecnologia
8º período, Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ
Período PIBIC/CETEM: agosto de 2021 à julho de 2022
neveslouise32@gmail.com

Ellen Cristine Giese

Orientadora, Química, D.Sc.
egiese@cetem.gov.br

Ana Carolina de Oliveira Santana

Coorientador, Biotecnologista, M.Sc.
asantana@cetem.gov.br

RESUMO

Com o esgotamento contínuo de minérios de sulfeto de alto teor, a lixiviação biológica de minérios de baixo teor e de rejeitos metálicos vêm se destacando nas últimas décadas por ser uma alternativa sustentável e econômica para o processamento desses minerais. Os processos bio-hidrometalúrgicos são baseados na atividade metabólica dos microrganismos e por isso, é de suma importância a compreensão dos parâmetros microbiológicos envolvidos na solubilização de metais. Em vista disso, o presente trabalho se propõe analisar o comportamento bioquímico da espécie fúngica *Penicillium simplicissimum*, empregada nos ensaios de biolixiviação a partir de uma amostra de níquel laterítico, visando a solubilização de Ni e Co. Neste sentido, foram avaliados o pH do meio, o crescimento da massa celular fúngica, o consumo de glicose, bem como a concentração dos metais de interesse que foram solubilizados ao final dos ensaios de biolixiviação.

Palavras-chave: Biolixiviação, lateritas, níquel, cobalto.

ABSTRACT

With the continuous depletion of high-grade sulfide ores, the biological leaching of low-grade ores and metallic tailings has been highlighted in the last decades as a sustainable and economical alternative for the processing of these minerals. The bio-hydrometallurgical processes are based on the metabolic activity of microorganisms and therefore, the understanding of the microbiological parameters involved in the solubilization of metals is of utmost importance. In view of this, the present work proposes to analyze the biochemical behavior of the fungal species *Penicillium simplicissimum*, employed in bioleaching tests from a sample of nickel laterite, aiming the solubilization of Ni and Co. In this sense, the pH of the medium, the growth of fungal cell mass, the consumption of glucose, as well as the concentration of metals of interest that were solubilized at the end of the bioleaching tests were evaluated.

Keywords: Bioleaching, laterites, nickel, cobalt.

1. INTRODUÇÃO

A biolixiviação é um ramo da biohidrometalurgia que se baseia na utilização de microrganismos acidófilos, quimiolitotróficos e produtores de ácidos orgânicos, na extração biológica de metais tendo como principal agente de extração as substâncias orgânicas oxidantes que são produzidas pelos microrganismos (OLIVEIRA et al., 2009). Nesse contexto, os fungos vêm ganhando espaço na biolixiviação de metais por demonstrarem eficácia na oxidação de bens metálicos aliada a capacidade de se desenvolverem em diversos ambientes, até mesmo em condições extremas, além de produzirem diversas substâncias orgânicas que formam complexos solúveis com íons metálicos, o que confere a esses microrganismos maior tolerância a metais tóxicos (GADD, 2008; PATHAK et al., 2020).

De modo geral, ao utilizarem carbono orgânico (glicose e sacarose) como fonte de energia, em condições aeróbicas, os fungos oxidam estes compostos a dióxido de carbono e água, produzindo e excretando metabólitos orgânicos, tais como ácidos orgânicos e exopolissacarídeos, que podem interagir com a superfície mineral onde se encontram aderidos, ocasionando a solubilização de metais de interesse (JAIN e SHARMA, 2004; MANAHAN, 2013). Desse modo, à medida que os microrganismos heterotróficos crescem, se desenvolvem e se estabelecem no meio, há a produção de substâncias orgânicas oxidantes que ocasionam a extração metálica (GADD, 2008).

Assim, tendo em vista que os processos biolixiviativos lidam com organismos vivos que se adaptam ao meio ambiente o qual estão inseridos, se faz necessário avaliar os parâmetros microbiológicos que regem a biossolubilização metálica, a fim de selecionar a condição bioquímica ideal para o crescimento fúngico, bem como garantir um delineamento robusto do processo. Por conseguinte, o presente trabalho propõe-se avaliar os parâmetros envolvidos nos ensaios de biolixiviação mediado pelo fungo filamentoso *Penicillium simplicissimum*, de forma a obter um bioprocessos viável de extração de níquel (Ni) e cobalto (Co) de minério laterítico de níquel.

2. OBJETIVO

Avaliar os parâmetros microbiológicos do fungo *Penicillium simplicissimum* durante o processo de bioextração de níquel e cobalto a partir de uma amostra de níquel laterítico.

3. METODOLOGIA

3.1. Ensaio de Biolixiviação em Frascos Agitados

Amostra mineral e microrganismo

Para a realização do ensaio de biolixiviação foram utilizadas amostras de minério de níquel laterítico da região centro-oeste do Brasil. O fungo filamentoso utilizado neste trabalho foi a cepa *Penicillium simplicissimum*, pertencente ao banco de microrganismos do LABAM (CETEM). O microrganismo foi cultivado em frascos de Erlenmeyer de 250 mL contendo 100 ml de meio de cultivo Czapek [glicose 10% (m/v); NaNO₃: 3g.L⁻¹; MgSO₄.7H₂O: 0,5g.L⁻¹; K₂HPO₄: 1,0g.L⁻¹, KCl: 0,5 g.L⁻¹; FeSO₄.7H₂O: 0,01g.L⁻¹], com pH 7.

Delineamento Experimental

Para avaliar o comportamento bioquímico do fungo *P. simplicissimum* na presença do minério laterítico de níquel, o ensaio de biolixiviação foi realizado em dois grupos distintos, onde o grupo 2 continha o minério laterítico e o grupo 1, não.

Grupo 1 - Ensaio em frascos agitados sem adição de minério de níquel laterítico: Os ensaios contendo somente o fungo *P. simplicissimum* foram conduzidos em escala de bancada, em frascos Erlenmeyers de 500 mL contendo 200 mL de meio de cultura Czapek, nas seguintes condições: pH7; glicose 10% (m/v).

Grupo 2- Ensaio em frascos agitados com adição de minério de níquel laterítico: Os ensaios deste grupo foram conduzidos em escala de bancada, em frascos Erlenmeyers de 500 mL contendo 200 mL de meio de cultura Czapek, nas seguintes condições: pH 7; glicose 10% (m/v); densidade de polpa de 0,25% (m/v) de laterita.

Após a inoculação, os frascos foram incubados a 30°C, sob agitação constante de 150 rpm, por um período de 30 dias. Todos os ensaios foram feitos em duplicatas e comparados com ensaio controle sem adição de inóculo (controle abiótico). Além disso, tanto o ensaio sem a adição, como o ensaio com a adição de minério de níquel laterítico foram realizados utilizando-se frascos de sacrifício para a coleta dos pontos amostrais que serão apresentados e discutidos adiante. Dessa forma, um único frasco de cada grupo e a sua duplicata foram retirados no 1°, 2°, 3°, 4°, 7°, 9°, 11°, 14°, 17°, 21°, 25° e no 30° dia de experimento, totalizando doze pontos amostrais, para a avaliação dos parâmetros microbiológicos e para as determinações analíticas.

Assim, à medida que os frascos eram retirados do ensaio no tempo previsto, o lixiviado era filtrado utilizando-se papel de filtro quantitativo, previamente seco e pesado, faixa azul, Whatman 150mm (de membrana de 0,42 µm), no intuito de separar a biomassa fúngica do meio líquido contendo os metais lixiviados e assim analisar os parâmetros selecionados. Portanto, após a filtragem do conteúdo dos frascos, o papel filtro contendo a biomassa que ficou retida, foi seco em estufa a 90°C até o peso constante, para a determinação do crescimento fúngico ao longo do experimento. Já o lixiviado filtrado foi utilizado para as medições de pH, para as determinações analíticas de Ni e Co por Espectrometria de Absorção Atômica e para a determinação da glicose residual que não foi consumida pelo fungo, através do método espectrofotométrico de Somogyi-Nelson, que se baseia nas propriedades redutoras de açúcares, seguiu-se o protocolo de Maldonado et al. (2013).

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1. Crescimento Fúngico *Versus* Consumo de Glicose

De modo geral, a cepa de *P. simplicissimum* apresentou comportamento bioquímico distinto quando cultivada na presença do minério laterítico. A Figura 1 descreve os dados obtidos para o ensaio sem adição de minério de níquel laterítico (Grupo 1) e os resultados referentes ao ensaio com adição de minério (Grupo 2).

Com base nesses resultados, observa-se que no grupo 1 houve um declínio na concentração de glicose no decorrer do tempo de experimento, indicando que houve seu consumo, conforme esperado, concomitantemente ao crescimento da biomassa fúngica. À medida que o microrganismo se desenvolve, este necessita de uma fonte de carbono como fonte de energia, portanto, é esperado que haja um consumo expressivo na fonte de carboidrato presente no meio. Entretanto, em relação ao resultado do consumo de glicose do grupo 2, não foi possível sua análise pela metodologia utilizada. Ao decorrer do experimento observou-se que a metodologia de Somogyi-Nelson não é indicada para amostras que contenham metais, pois estes interferem analiticamente nas reações de redução que ocorrem na análise. Por isso, outras metodologias de análise da glicose residual estão sendo testadas para os ensaios do grupo 2.

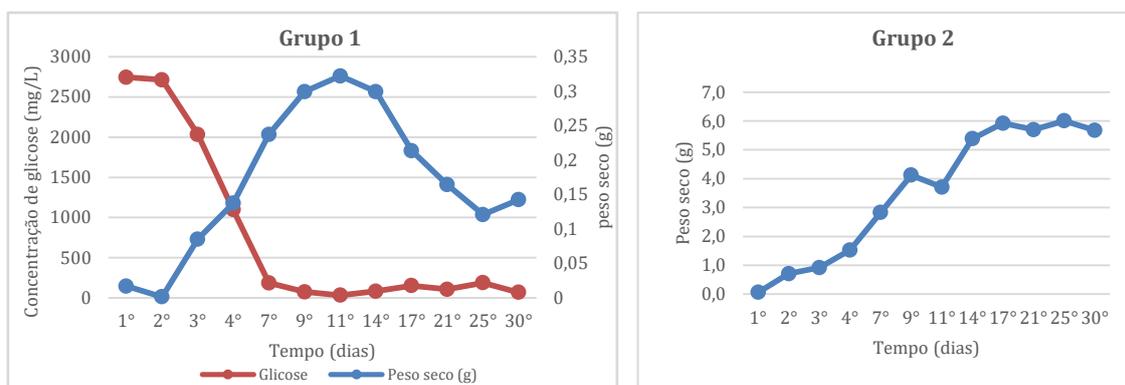


Figura 1: Concentração de glicose e de biomassa celular ao longo do tempo.

Nota-se que o ensaio do grupo 2 chegou ao 30º dia antes de atingir a fase de declínio, ou seja, ao final do experimento o ensaio ainda se encontrava na fase estacionária, apresentando uma estabilidade no crescimento da biomassa. Isso significa que mesmo após 30 dias de experimento o número de novas células fúngicas era igual ao número de células que morria. Enquanto no ensaio do grupo 1, já no décimo primeiro dia, as células já tinham entrado na fase de declínio e consumido praticamente toda a glicose presente no meio. Isso possivelmente indica que o fungo *P. simplicissimum* se adaptou muito bem na presença do minério laterítico mesmo em uma densidade de 0,25% (m/v). Apesar da laterita conter metais que em altas concentrações poderiam ser prejudiciais ao crescimento fúngico, de certa forma a presença do mineral no meio de cultivo ofertou um suporte nutricional favorável ao seu crescimento.

4.2. Solubilização de Ni e Co e a Acidificação do Meio

Na Tabela 1 estão descritos os resultados de pH tanto do grupo 1 (sem adição de minério), quanto do grupo 2 (com adição de minério), bem como a porcentagem de níquel (Ni) e cobalto (Co) que foi biolixiviado do minério laterítico de níquel presente nos ensaios do grupo 2.

Tabela 1: pH dos ensaios dos grupos 1 e 2 e a porcentagem de extração de Ni e Co nos ensaios do grupo 2.

Tempo (dias)	pH		Extração (%) grupo 2	
	Grupo 1	Grupo 2	Ni	Co
1°	7,17	7,26	0,12	0
2°	7,58	7,69	0	0
3°	6,48	6,51	0,75	0
4°	3,81	5,82	2,59	0
7°	3,34	5,90	6,18	12,26
9°	7,44	5,27	9,27	6,81
11°	7,35	4,31	13,68	15,66
14°	7,80	3,36	16,77	15,66
17°	6,91	3,39	23,69	19,75
21°	8,34	4,37	30,01	5,45
25°	8,46	5,18	36,19	26,56
30°	8,14	7,79	36,78	17,02

Observando-se os resultados de pH que estão apresentados na tabela acima, se constata que os grupos 1 e 2 apresentaram perfis ácidos distintos ao decorrer do experimento. Apesar de ambos terem sido inicialmente ajustados em pH 7, o grupo 1 se tornou mais ácido (3,81) do que o grupo 2 (5,82), no quarto dia, mas voltou a neutralidade já no nono dia de ensaio. Enquanto os ensaios do grupo 2 permaneceram ácidos praticamente até o final do experimento.

Os ensaios contendo o minério de níquel laterítico (grupo 2), apresentaram maior grau de acidificação do meio em detrimento do grupo 1, e isto provavelmente ocorreu devido aos

mecanismos bioquímicos adaptativos inerente aos fungos, onde em ambientes inóspitos estes microrganismos excretam metabólitos ácidos, que possuem propriedades quelantes e complexantes de metais, o que influencia a solubilidade e mobilidade dos íons metálicos. No caso dos ensaios realizados no grupo 2, certamente o fungo está produzindo metabólitos geoativos como os ácidos orgânicos, que em contato com o material mineral resulta na oxidação ou redução de espécies metálicas, ocasionando assim a redução do pH por conta da produção de ácidos (GADD; 2017). Vale ressaltar, que o presente projeto se encontra em andamento, e as próximas etapas do mesmo contemplam a análise dos ácidos orgânicos que seguramente estão sendo produzidos nos ensaios de biolixiviação mediados pelo fungo *P. simplicissimum*.

5. CONCLUSÕES

Conclui-se que o fungo *Penicillium simplicissimum* possui o seu ciclo de vida diretamente ligado à disponibilidade de glicose presente no meio, e que a presença de minério laterítico de níquel influencia positivamente seu crescimento e desenvolvimento. Assim, a partir dos resultados aqui expostos, as próximas etapas do presente projeto destinam-se a investigação do consumo de glicose pelo fungo e da produção de ácidos orgânicos fúngicos quando em contato com o minério de níquel laterítico. Desse modo, com o desenvolvimento do presente projeto espera-se avaliar os parâmetros envolvidos na biossolubilização de lateritas com o uso de microrganismos heterotróficos para a obtenção de um bioprocesso viável de biolixiviação de níquel e cobalto.

6. AGRADECIMENTOS

À FAPERJ e ao MCTI pelo apoio financeiro. Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica; ao CETEM pela oportunidade; à D.Sc. Ellen Giese e M.Sc. Ana Santana pela atenção e constante auxílio na realização do trabalho.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MALDONADE, I.R.; CARVALHO, P.G.B.; FERREIRA, N.A.; MOULIN B.S.F. Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson. Comunicado Técnico 86.

GIESE, E.C. BIOLIXIVIAÇÃO: uma avaliação das inovações tecnológicas na biomineração de minerais sulfetados no período de 1991 a 2015. Tecnologia em Metalurgia Materiais e Mineração, [S.L.], v. 14, n. 3, p. 192-203, 2017. <http://dx.doi.org/10.4322/2176-1523.1205>.

GADD, G.M. Bacterial and fungal geomicrobiology: a problem with communities?. Geobiology, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 278-284, jun. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-4669.2007.00137.x>.

GADD, G.M. “Fungos, Rochas e Minerais”. *Elementos*, v. 13, n.º 3, de junho de 2017, p. 171-76. <https://doi.org/10.2113/gselements.13.3.171>.

JAIN, N.; SHARMA, D.K. Biohidrometalurgia para Minerais Não Sulfídicos – Uma Revisão. Revista de Geomicrobiologia, vol. 21, n.º , abril de 2004, p. 135-44. Taylor e Francis+NEJM, <https://doi.org/10.1080/01490450490275271>.

MANAHAN, S.E. *Química ambiental*. 9. ed., Bookman, 2013.

OLIVEIRA, D.M.; SÉRVULO, E.F.C.; SOBRAL, L.G.S.; PEIXOTO, G.H.C. Biolixiviação: Utilização de Micro-organismos na Extração de Metais. Rio de Janeiro: Cetem/McT, 2010. 40 p. Disponível em: <http://mineralis.cetem.gov.br/bitstream/cetem/317/1/sta-53.pdf>.

PATHAK, Ashish *et al.* Biolixiviação fúngica de metais de catalisadores gastos em refinarias: uma revisão crítica das pesquisas atuais, desafios e direções futuras. *Jornal de Gestão Ambiental*. Amsterdam, p. 1-14. dez. 2020.